



19 BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENT- UND
MARKENAMT

12 **Offenlegungsschrift**
10 **DE 101 04 957 A 1**

51 Int. Cl. 7:
B 81 C 3/00
B 81 B 7/00
G 01 F 1/56
G 01 N 21/69

21 Aktenzeichen: 101 04 957.9
22 Anmeldetag: 3. 2. 2001
43 Offenlegungstag: 21. 3. 2002

DE 101 04 957 A 1

66 Innere Priorität:
100 44 333. 8 07. 09. 2000

71 Anmelder:
GeSim - Gesellschaft für Silizium-Mikrosysteme
mbH, 01474 Schönfeld-Weißig, DE

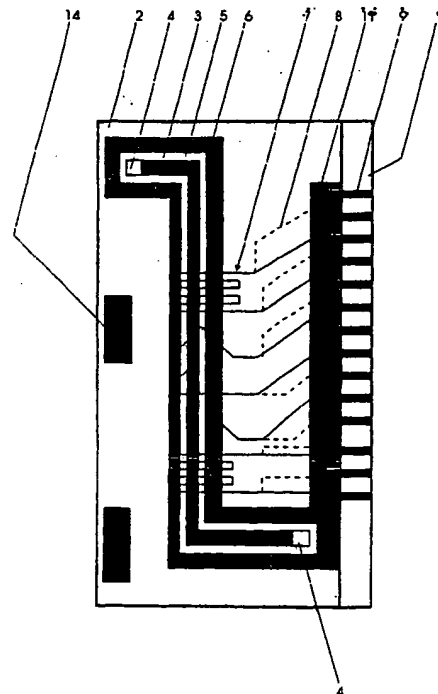
74 Vertreter:
Patentanwälte Lippert, Stachow, Schmidt &
Partner, 01309 Dresden

72 Erfinder:
Howitz, Steffen, Dr., 01309 Dresden, DE; Fuhr,
Günther, Prof. Dr., 13187 Berlin, DE

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

54 Verfahren zum Herstellen einer 3-D-Mikrodurchflussszelle und 3-D-Mikrodurchflussszelle

57 Die Erfindung betrifft ein Verfahren zum Herstellen einer 3-D-Mikrodurchflussszelle und eine nach dem Verfahren hergestellte Mikrodurchflussszelle.
Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein Verfahren zum Herstellen einer 3-D-Mikrodurchflussszelle aufzuzeigen, welches kostengünstig realisiert werden kann und mit dem insbesondere gleichbleibende geometrische Parameter realisiert werden können.
Erfindungsgemäß werden auf dem unteren Substrat (1) den Strömungskanal (3) beidseits desselben definierende Spacer-I (5) sowie zusätzliche Abstandshalter (14) aus einem im wesentlichen nicht kompressiblen Material oder härtbarem Material vorgegebener Höhe aufgebracht, die nach dem Aufbringen mit dem unteren Substrat (1) irreversibel fest verbunden werden. Außerhalb des Strömungskanals wird ein pastöser Klebstoff als Spacer-II (6), den Spacer-I (5) parallel umfassend, mit gleichmäßiger Dicke aufgetragen und anschließend das obere Substrat (2) auf dem unteren Substrat (1) positioniert und unter Kraft-, Wärme oder Lichteinwirkung mit diesem verbunden, wobei gleichzeitig der Strömungskanal (3) abgedichtet wird.



DE 101 04 957 A 1

[0001] Die Erfindung betrifft ein Verfahren zum Herstellen einer 3-D-Mikrodurchflusszelle, bestehend aus einem unteren und einem oberen Substrat, zwischen denen ein Strömungskanal angeordnet ist, den eine mit Außenkontakten verbundene Elektrodenstruktur durchdringt, wobei wenigstens eines der Substrate zunächst mit einer Leitbahn- und Elektrodenstruktur und an den Enden des Strömungskanales mit Durchkontaktierungen zum Anschluss eines Flüssigkeitszu- und -ablaufes versehen wird. Die Erfindung betrifft ferner eine mit dem Verfahren hergestellte 3-D-Mikrodurchflusszelle.

[0002] Derartige 3-D-Mikrodurchflusszellen werden beispielsweise als Zellmanipulatoren für die Handhabung und optische Analyse dielektrischer biologischer Partikel, insbesondere von Zellen und/oder Bakterien bzw. Viren, verwendet. Zu diesem Zweck sind die Mikrodurchflusszellen mit einem Strömungskanal ausgestattet, an dessen Enden ein oder mehrere Flüssigkeitszu- und -abläufe vorgesehen sind. Diese Flüssigkeitszu- und -abläufe werden beispielsweise durch sich senkrecht zum Strömungskanal erstreckende Durchkontaktierungen hergestellt. Die Höhe des Flüssigkeitskanales liegt in der Regel im Bereich von wenigen Mikrometern, wobei der Strömungskanal oben und unten durch Glassubstrate und/oder Siliziumsubstrate und seitlich durch entsprechende Kanalwandungen begrenzt wird. Um einzelne Zellen an einem vorgegebenen Ort innerhalb des Flüssigkeitskanales "freischwebend" fixieren zu können, befinden sich im Flüssigkeitskanal Elektroden, die beim Anlegen einer elektrischen Spannung ein elektrisches Feld erzeugen. Die elektrostatisch fixierte Zelle kann dann durch eine geeignete Beleuchtung beleuchtet und mittels eines Mikroskopes beobachtet werden.

[0003] Um derartige dreidimensionale Strukturen realisieren zu können, sind verschiedene Technologien allgemein bekannt geworden. So kann z. B. ein Glassubstrat einseitig nasschemisch geätzt werden, um einen Strömungskanal in diesem auszubilden und nachfolgend mittels Diffusionsschweißen mit einem zweiten Glassubstrat als Deckelement verbunden werden. Die für das Handling von Zellen oder biologischen Partikeln erforderlichen Elektroden werden vorher auf das erste und/oder zweite Glassubstrat mittels bekannter Verfahren der Fotolithografie aufgebracht und das zweite Glassubstrat nachfolgend Face-down auf das untere Glassubstrat montiert.

[0004] Die Technologie des Diffusionsschweißens ist allerdings relativ teuer und die Möglichkeiten der in der Regel isotropen Glasstrukturierung sind begrenzt. Ein weiterer Nachteil ist darin zu sehen, dass nur relativ grobe Elektrodenstrukturen auf die strukturierten Glasoberflächen aufgebracht werden können. Um ein exaktes Handling einzelner Zellen oder biologischer Partikel realisieren zu können, ist jedoch eine äußerst präzise geometrische Ausbildung der Elektroden erforderlich, um diese Partikel elektrostatisch am gewünschten Ort berührungslos manipulieren und festhalten zu können.

[0005] Eine andere Technologie wird von Müller/Gradl/Howitz/Shirley/Schnelle/Fuhr in der Zeitschrift "BIOSSENSORS & ELECTRONICS", Heft 14 (1999), Seite 247 bis 256 beschrieben. Hierbei handelt es sich um die Anwendung der rein manuellen Epoxydharzklebetechnik, wobei zunächst ein Polymer-Spacer auf eine Glasoberfläche prozessiert wird, die vorher mit Platinelektroden und elektrischen Leitbahnen versehen worden ist. Anschließend wird das Glassubstrat mit einem Kunstharz, z. B. Epoxydharz, als Klebstoff außerhalb der Polymerstruktur bestrichen und danach darauf ein zweites Glas, welches ebenfalls mit Elektro-

den versehen ist, positioniert und der Verbund nachfolgend verpresst. Dieser Montageschritt wird üblicherweise mit einem sogenannten Die-Bonder (Cip-Bonder) ausgeführt.

[0006] Schwierigkeiten sind hier darin zu sehen, dass es problematisch ist, Mikrodurchflusszellen herzustellen, die immer exakt gleiche geometrische Abmessungen aufweisen und bei denen mit Sicherheit während des Montageprozesses kein Klebstoff in den Strömungskanal eindringt, der diesen teilweise verengen würde. Die Effizienz dieses Schrittes ist daher äußerst mangelhaft und für eine Massenproduktion nicht geeignet.

[0007] Weiterhin ist eine sogenannte Underfiller-Technik bekannt geworden, bei der ein Polymer-1 (Dicklack) auf das mit Elektroden versehene Glassubstrat aufgeschleudert wird, wobei die Dicke des aufgeschleuderten Polymers durch die Höhe des vorgesehenen Kanales vorgegeben wird. Aus diesem Polymer wird dann das Positiv-Kanalsystem strukturiert, d. h. der übrige Dicklack wird während dieser Fotostrukturierung vollständig entfernt. Anschließend wird dann das zweite Glassubstrat zum ersten Glassubstrat justiert und aufgepresst. Diese auf diese Weise gewonnene 3-D-Anordnung wird durch seitliches Einstromen eines kriechfähigen Klebers (Underfiller), einem Polymer-2, fixiert, wonach das Kanalsystem im Polymer-1 mit einem Lösungsmittel wieder ausgewaschen wird. Dabei darf das Lösungsmittel das Polymer-2 nicht angreifen. Besonders nachteilig ist hier, dass auf diesem Wege im Kanal keine inneren Strömungselemente herstellbar sind, weil diese vom Polymer-2 nicht erreicht werden können. Außerdem ist diese Technik äußerst zeitaufwendig und hinsichtlich der Strukturauflösung begrenzt.

[0008] Der Erfindung liegt nunmehr die Aufgabe zugrunde, ein Verfahren zum Herstellen einer 3-D-Mikrodurchflusszelle aufzuzeigen, welches kostengünstig realisiert werden kann und mit dem insbesondere gleichbleibende geometrische Parameter realisiert werden können. Der Erfindung liegt ferner die Aufgabe zugrunde, eine 3-D-Mikrodurchflusszelle zu schaffen, die mit dem erfindungsgemäßen Verfahren kostengünstig hergestellt werden kann.

[0009] Die der Erfindung zugrunde liegende Aufgabe wird bei einem Verfahren zum Herstellen einer 3-D-Mikrodurchflusszelle, bestehend aus einem unteren und einem oberen Substrat, zwischen denen ein Strömungskanal angeordnet ist, den eine mit Außenkontakten verbundene Elektrodenstruktur durchdringt, wobei wenigstens eines der Substrate zunächst mit einer Leitbahn- und Elektrodenstruktur und an den Enden des Strömungskanales mit Durchkontaktierungen zum Anschluss von Flüssigkeitszu- und -abläufen versehen wird, dadurch gelöst, dass auf dem unterem Substrat den Strömungskanal beidseits desselben definierende Spacer-I sowie zusätzliche Abstandshalter aus einem im wesentlichen nichtkompressiblen Material oder härtbaren Material vorgegebener Höhe aufgebracht werden, die nach dem Aufbringen mit dem unteren Substrat irreversibel fest verbunden werden, dass außerhalb des Strömungskanales ein pastöser Klebstoff als Spacer-II gleichmäßiger Dicke aufgetragen wird und dass anschließend das obere Substrat auf dem unteren Substrat positioniert und unter Krafteinwirkung mit diesem verbunden wird, wobei gleichzeitig der Strömungskanal abgedichtet wird.

[0010] Dieses einfach zu realisierende Verfahren gewährleistet einerseits eine äußerste Präzision der geometrischen Abmessungen des Strömungskanales und andererseits eine vollständige und einfache Abdichtung desselben, ohne dass die Gefahr besteht, dass Klebstoffmengen in den Strömungskanal eindringen, die diesen verengen könnten.

[0011] In einer ersten Fortführung der Erfindung wird der Spacer-II unmittelbar neben dem Spacer-I, diesen parallel

umfassend, aufgetragen, wobei die Dicke des Spacers-II vor der Montage größer ist, als die Höhe des Spacers-I.

[0012] Für die Herstellung der Spacer-I und der Abstandshalter bestehen unterschiedliche Möglichkeiten. So können die Spacer-I und die Abstandshalter mittels Siebdruck, oder Dispensieren auf das untere Substrat aufgebracht und anschließend gehärtet werden, wobei das Härten beispielsweise durch Wärmeeinwirkung oder durch Licht- bzw. UV-Bestrahlung vorgenommen werden kann.

[0013] Eine andere Möglichkeit besteht darin, die Spacer-I und die Abstandshalter auf dem unteren Substrat mittels fotolithografischer Verfahren herzustellen und anschließend durch Tempern zu härten. Vorzugsweise werden hierzu der Spacer-I und die Abstandshalter aus einem fotostrukturierbaren Fotoresist, vorzugsweise einem Trockenfotoresist, hergestellt. Fotolithografische Verfahren ermöglichen gegenüber dem Siebdruck eine geringere Kantenrauigkeit und damit eine größere Präzision, so dass feinere Strukturen hergestellt werden können.

[0014] Eine weitere Möglichkeit besteht darin, den Spacer-I und die Abstandshalter aus einer vorstrukturierten, wenigstens einseitig klebenden Metall- oder Polymerfolie herzustellen und auf das untere Substrat aufzukleben.

[0015] Für die Befestigung des oberen Substrates auf dem unteren Substrat, d. h. zum Herstellen der 3-D-Struktur, wird vorzugsweise ein Klebstoff als Spacer-II auf der Basis von Epoxydharz oder Silikonkautschuk verwendet. Die Herstellung der Verbindung des oberen mit dem unteren Substrates kann unter Einwirkung von Druck und Wärme und/oder Licht- bzw. UV-Bestrahlung erfolgen.

[0016] Die der Erfindung zugrunde liegende Aufgabenstellung wird ferner durch eine 3-D-Mikrodurchflusszelle gelöst, die aus einem unteren und einem oberen Substrat besteht, wobei zwischen den Substraten ein mit fluidischen Durchkontaktierungen versehener Strömungskanal angeordnet ist, den ein mit Außenkontakten verbundenes Elektrodensystem durchdringt und die dadurch gekennzeichnet ist, dass auf dem unteren Substrat den Strömungskanal definierende Spacer-I sowie zusätzliche Abstandshalter und/oder Stabilisatoren aus einem im wesentlichen nicht kompressiblen Material oder härtbaren Material vorgegebener Höhe angeordnet sind, die mit diesem unteren Substrat irreversibel fest verbunden sind, und dass das obere Substrat mit dem unteren Substrat den Strömungskanal dicht verschließend, mittels einer pastösen, härtbaren Klebstoffschicht, einen Spacer-II bildend, fest verbunden ist.

[0017] In einer ersten Ausgestaltung der Erfindung erstreckt sich der Spacer-II beidseits außerhalb des Strömungskanales auf der Außenseite des Spacers-I, diesen parallel umfassend.

[0018] Die Dicke der Spacer-I und der Abstandshalter muß gleich groß sein und sollte zwischen 10 µm und 1050 µm in Abhängigkeit von der vorgesehenen Höhe des Strömungskanales liegen.

[0019] In Fortführung der Erfindung kann wenigstens eines der beiden Glassubstrate eine Dicke von 150 µm ... 200 µm aufweisen und das andere 500 µm ... 1000 µm dick sein. So erhält der Verbund eine ausreichende mechanische Stabilität und ist zugleich für den Einsatz hochauflösender Mikroskopie geeignet.

[0020] Das obere Substrat kann auch aus einer Kunststoff-Folie, beispielsweise einer Polymerfolie, mit einer Dicke von 170 µm bis 200 µm, bestehen.

[0021] Eine weitere Ausgestaltung der Erfindung ist dadurch gekennzeichnet, dass der Bereich des Strömungskanales wenigstens im Wellenlängenbereich von 250 nm bis 450 nm optisch transparent ist. Dies kann einfach durch Auswahl geeigneter Materialien für das untere und das

obere Substrat realisiert werden.

[0022] Die Erfindung ist in einer weiteren besonderen Ausgestaltung dadurch gekennzeichnet, dass das obere und das untere Substrat jeweils metallische Mikroelektroden besitzen, die in einem vorgegebenen dreidimensionalen geometrischen Bezug zueinander stehen und dass das obere Substrat Face-down auf dem unteren Substrat montiert ist. Die Mikroelektroden des oberen Substrates sind mit Kontaktpads versehen und mit den Außenkontakten auf dem unteren Substrat mittels Leitleber oder Lötpads elektrisch verbunden.

[0023] Die Mikroelektroden bestehen aus einem Dünnsystem, aus Platin, Gold, Tantal oder Titan.

[0024] In einer besonderen Ausgestaltung der Erfindung ist das Elektroden- und Anschlusssystem auf dem oberen und dem unteren Substrat mittels eines anorganischen Isolatormaterials ganzflächig isoliert, wobei das Isolatormaterial im inneren des Strömungskanales, auf den Kontaktpads sowie auf den Kontaktsupports ausgespart ist, um eine ausreichende elektrische Kontaktierung an diesen Stellen zu ermöglichen.

[0025] Um eine durch das Polymer des Spacers-I - der den Strömungskanal bildet - bei Lichtanregung verursachte Eigenfluoreszenz während der optisch-mikroskopischen Detektion auszublenden, ist auf der Außenseite des oberen Substrates eine zumindest lichtundurchlässige Blende in der Weise angebracht, dass der Randbereich des Strömungskanales abgedeckt, jedoch dessen zentraler Bereich freigehalten ist. Der besondere Vorteil einer solchen Blende ist, dass eine fluoreszenzbasierte Detektion an biologischen Zellen im Strömungskanal erfolgen kann, ohne dass die dabei gleichzeitig veranlasste Fluoreszenz der den Kanal begrenzenden Materialien einen störenden Einfluss ausüben würde.

[0026] Die Blende kann vorteilhaft auch als Abschirmung von innen und außen für elektromagnetische und bioelektrische Wellen ausgebildet sein, wodurch sicher verhindert wird, dass regelmäßig vorhandener Elektrosmog einen negativen Einfluss auf die Detektion der Zellen ausüben kann.

[0027] Im einfachsten Fall besteht die Blende aus Metall, wobei diese auch aus einem fotolithografisch strukturierbaren Dünnsystem, z. B. aus Cu oder Al, bestehen kann.

[0028] Dieser Dünnsystem sollte zweckmäßigerweise ablösbar sein, so dass im Bedarfsfall der Strömungskanal in gesamter Breite optisch untersucht werden kann.

[0029] Um die Ausbildung eines Kleberfilmes auf der Innenseite des Strömungskanales möglichst zu verhindern, ist in einer besonderen Fortführung der Erfindung der Spacer-I in seiner Kontaktfläche mit einer Nut oder mit einer anderweitig längs desselben verlaufenden Vertiefung zur Aufnahme von Klebstoff während des Montageprozesses versehen.

[0030] In besonderen Fällen kann es wünschenswert sein, dass das obere Substrat lösbar mit dem unteren Substrat verbunden ist. Für diesen Fall ist eine besondere Variante der Erfindung dadurch gekennzeichnet, dass der Spacer-II aus Silikongummi auf den Spacer-I aufgedruckt wird und nach dem Ausvulkanisieren das obere und das untere Substrat kraftschlüssig miteinander verbunden werden. Dadurch läßt sich diese 3-D-Mikrodurchflusszelle leicht öffnen und bei Bedarf einfach desinfizieren.

[0031] Eine weitere besondere Variante der Erfindung ist dadurch gekennzeichnet, dass der fotolithografisch auf dem unteren Substrat hergestellte Spacer-I eine Breite aufweist, die im wesentlichen der Parallelanordnung von Spacer-I und Spacer-II entspricht und dass das obere Substrat durch Adhäsionskraft auf dem unteren Substrat befestigt ist. Diese Variante der Erfindung ist allerdings nur für solche Fälle ge-

eignet, in denen das obere Substrat keine Elektrodenstruktur enthält.

[0032] Die Erfindung soll nachfolgend an einem Ausführungsbeispiel näher erläutert werden. In den zugehörigen Zeichnungen zeigen:

[0033] Fig. 1 eine schematische Draufsicht auf eine 3-D-Mikrodurchflusszelle;

[0034] Fig. 2 eine Sequenz der Herstellung des unteren Substrates der 3-D-Mikrodurchflusszelle;

[0035] Fig. 3 die Montage-Sequenz zur Fertigstellung der 3-D-Mikrodurchflusszelle;

[0036] Fig. 4 eine Schnittdarstellung der 3-D-Mikrodurchflusszelle entsprechend Fig. 3 als Glas-Glas-Modul;

[0037] Fig. 5 eine Schnittdarstellung einer 3-D-Mikrodurchflusszelle mit Flip-Chip-Kontaktierung; und

[0038] Fig. 6 eine mit einer Cu-Blende versehene 3-D-Mikrodurchflusszelle.

[0039] Aus der Zeichnungsfigur 1 ist eine erfindungsgemäße 3-D-Mikrodurchflusszelle ersichtlich, die aus einem unteren Substrat 1 aus Glas mit einer Dicke von ca. 750 µm und einem oberen Substrat 2 besteht. Das obere Substrat besteht im vorliegenden Fall ebenfalls aus Glas mit einer Dicke von etwa 150 µm, wobei hier auch andere Materialien verwendet werden können, die im wellenlängenbereich zwischen 250 ... 450 nm eine ausreichende Transparenz aufweisen. Zwischen beiden Substraten 1 und 2 befindet sich ein Strömungskanal 3, der an seinen Enden jeweils mit einem fluidischen Durchkontakt 4 zur Zu- und Ableitung einer Flüssigkeit versehen ist. Der Strömungskanal 3 wird in seiner gesamten Längsausdehnung seitlich durch einen Spacer-I 5 und einen weiteren Spacer-II 6 begrenzt, der sich beidseits außerhalb des Strömungskanales 3 neben dem Spacer-I erstreckt.

[0040] Weiterhin befindet sich auf dem oberen Substrat 2 und dem unteren Substrat 1 eine Elektrodenstruktur 7, die über Leitbahnen 8 mit Außenkontakten 9 verbunden ist.

[0041] In Gegensatz zu den Leitbahnen 8 auf dem unteren Substrat 1 enden die Leitbahnen 8 auf dem oberen Substrat 2 in Kontaktpads 10, die mittels Leitkleber oder Löt pads bzw. µ-Balls 18 mit den Außenkontakten 9 auf dem unteren Substrat 1 elektrisch verbunden sind.

[0042] Ferner sind sämtliche Außenkontakte 9 auf dem unteren Substrat 1 in einem Kontaktsupport 11 zusammengefasst, der die Aufgabe einer zusätzlichen gegenseitigen Isolation hat.

[0043] Zur elektrostatischen Fixierung von Zellen 12 bzw. biologischen Partikeln o. dgl. an einem vorgegebenen Ort innerhalb des Strömungskanales 3 (vgl. Fig. 5) enthält die Elektrodenstruktur 7 Mikroelektroden 13, die jeweils auf dem unteren Substrat 1 und dem oberen Substrat 2 in den Strömungskanal hineinragen und dreidimensional exakt positioniert sind.

[0044] Zur Erzielung eines über das Substrat konstanten Spacerabstandes zwischen den Substraten 1, 2 sind weiterhin noch Abstandshalter 14 vorgesehen.

[0045] Um die Ausbildung der einzelnen Strukturen auf dem unteren Substrat 1 besser veranschaulichen zu können, zeigt Fig. 2 eine entsprechende Sequenz. Dazu wird das untere Glassubstrat 1 zunächst gebohrt, um später die erforderlichen fluidischen Durchkontakte 4 zum Strömungskanal 3 realisieren zu können. Anschließend wird das untere Substrat 1 mit Hilfe der üblichen Dünnschichttechnik und Fotolithografie mit der Elektrodenstruktur 7 und den Leitbahnen 8, sowie den Außenkontakten 9 versehen. Die gesamte Struktur wird anschließend ganzflächig mittels eines anorganischen Isolatormaterials 15 isoliert. Dieser Isolator 15 wird anschließend im Bereich des künftigen Strömungskanales 3, sowie an den Außenkontakten 9 wieder entfernt, um

wirksame elektrische Strukturen herstellen zu können.

[0046] Nachfolgend wird der Strömungskanal 3 auf dem unteren Substrat 1 ausgebildet, indem ein Spacer-I 5 aus einem Polymer auf dem unteren Substrat 1 aufgebracht wird.

Für die Herstellung des Spacers-I 5 kann ein Trockenfotorezist mittels Fotolithografie strukturiert werden, oder es wird ein geeignetes Material mittels Siebdruck aufgebracht. Anschließend wird der Spacer-I 5 durch Wärmeeinwirkung oder UV-Strahlung gehärtet. Ganz wesentlich bei diesem Schritt ist, dass der Spacer-I 5 nach dem Härten genau die Dicke aufweist, die später der Strömungskanal 3 besitzen soll.

Darauf hin wird der Spacer-II 6, den Spacer-I 5 umgebend, auf das untere Substrat 1, durch Drucken oder mit Hilfe eines Dispensers aufgebracht. Die Dicke des Spacers-II 6 ist größer als die des Spacers-I 5. Als Spacer-II 6 wird in jedem Fall ein Kleber auf der Basis von Epoxydharz oder Silikonkautschuk verwendet.

Bei dem oberen Substrat 2 wird entsprechend Fig. 3a lediglich eine Elektrodenstruktur 7 auf gleiche Weise erzeugt wie auf dem unteren Substrat und über Leitbahnen mit Kontaktpads 10 verbunden. Auch diese Struktur wird anschließend mit einem organischen oder anorganischen elektrischen Isolatormaterial 15 ganzflächig isoliert, wobei anschließend die Elektrodenstruktur 7 im Bereich des künftigen Strömungskanales sowie der Kontaktpads 10 durch Entfernen des Isolatormaterials 15 wieder freigelegt werden.

[0049] Danach erfolgt die Flip-Chip-Montage entsprechend Fig. 3, indem das obere Substrat 2 Face-down exakt über dem unteren Substrat positioniert und anschließend aufgesetzt wird. Gleichzeitig wird Wärme zugeführt, um den Spacer-II 6 auszuhärten und somit die 3-D-Struktur wie in Fig. 1, 4, 5 dargestellt, herzustellen.

Um die nötigen elektrischen Kontakte zwischen den Kontaktpads 10 auf dem oberen Substrat und den Außenkontakten 9 auf dem unteren Substrat herstellen zu können, wird vor der Flip-Chip-Montage Leitkleber 16 auf die Anschlüsse dispensiert.

Zur Verhinderung des Eindringens von Klebstoff in den Strömungskanal 3 während des Montagevorganges, kann auf der Oberfläche des Spacers-I 5 eine längs desselben verlaufende, z. B. V-förmige Nut, eingearbeitet sein. Dies ist mittels der bekannten Verfahren der Fotolithografie problemlos möglich. Außerdem wird dadurch eine höhere Festigkeit der Gesamtstruktur erreicht.

Da schon die Kanalwandungen des Spacers-I 5 beim Beleuchten einer im Strömungskanal 3 räumlich fixierten Zelle 12 während der optischen Detektion eine störende Fluoreszenz erzeugt, muss für die optisch hochauflösende Detektion an z. B. einem Immersionsobjektiv eines Mikroskopes eine geeignete Ausblendung der Eigenfluoreszenz des Spacermaterials erfolgen.

Um derartige Störungen auszuschließen, kann entsprechend Fig. 6 eine lichtundurchlässige Blende 17 vorgesehen werden, die den Rand des Strömungskanales 3 abdeckt und den zentralen Bereich freihält. Diese Blende 17 kann aus einem metallischen strukturierbaren und justierten Dünnschicht hergestellt werden. Um eine solche Blende ggf. reversibel zu gestalten, ist der Gebrauch eines leicht entfernbaren Schichtsystems sinnvoll, so dass bei Bedarf der gesamte Querschnitt des Strömungskanales 3 beobachtet werden kann.

Der besondere Vorteil einer solchen Blende 17 ist, dass eine fluoreszenzbasierte Detektion an biologischen Zellen 12 im Strömungskanal 3 erfolgen kann, ohne dass die dabei gleichzeitig verursachte Fluoreszenz der den Kanal 3 begrenzenden Materialien einen durch Streulicht einen verursachten störenden Einfluss ausüben würde. Ein weiterer

Vorteil ist darin zu sehen, dass es durch die Blende 17 nicht mehr erforderlich ist, im optischen System einen zusätzliche Blende vorzusehen, was zu einer höheren Lichtstärke des optischen Systemes führt.

[0055] Die Blende 17 kann vorteilhaft auch als Abschirmung von innen und außen für elektromagnetische und bioelektrische Wellen ausgebildet sein, wodurch sicher verhindert wird, dass regelmäßig vorhandener Elektrosmog einen negativen Einfluss auf die Detektion der Zellen ausüben kann.

[0056] Im einfachsten Fall kann die Blende 17 aus einem Metall gefertigt werden, wobei die Blende 17 auch aus einem fotolithografisch strukturierbaren Dünnsfilm, z. B. aus Cu, Al oder einem anderen Metall, bestehen kann.

[0057] Damit kann die Blende 17 einfach durch Ätzen ohne Beeinträchtigung der Mikrodurchflusszelle entfernt werden.

[0058] Für den Fall, dass lediglich Wert auf eine optische Abschirmung durch die Blende 17 gelegt wird, kann diese natürlich auch aus anderen Materialien, z. B. einem Kunststoff, gefertigt werden.

[0059] In besonderen Fällen kann es wünschenswert sein, dass das obere Substrat 1 mit dem unteren Substrat 2 lösbar verbunden ist. Für diesen Fall ist eine besondere Variante der Erfindung dadurch gekennzeichnet, dass der Spacer-II 6 aus Silikongummi auf den Spacer-I 5 aufgedruckt ist und nach dem Ausvulkanisieren das obere und das untere Substrat 2, 1 kraftschlüssig miteinander verbunden werden. Die kraftschlüssige Verbindung kann durch eine einfache Klemmvorrichtung realisiert werden.

[0060] Im einfachsten Fall, d. h. wenn das obere Substrat keine Elektrodenstruktur 7 aufweist, kann eine wesentliche Vereinfachung des Aufbaues der 3-D-Mikrodurchflusszelle erreicht werden, wenn der fotolithografisch auf dem unteren Substrat 1 hergestellte Spacer-I 5 eine Breite aufweist, die im wesentlichen der Parallelanordnung von Spacer-I 5 und Spacer-II 6 entspricht (Fig. 5), wobei das obere Substrat 2 lediglich durch Adhäsionskraft auf dem unteren Substrat 1 befestigt ist. Voraussetzung hierfür ist, dass die Kontaktfläche des ersten Spacers-I (5) mit dem oberen Substrat vollkommen eben ist.

Bezugszeichenliste

1 unteres Substrat	45
2 oberes Substrat	
3 Strömungskanal	
4 fluidischer Durchkontakt	
5 Spacer I	
6 Spacer II	50
7 Elektrodenstruktur	
8 Leitbahn	
9 Außenkontakt	
10 Kontaktpad	
11 Kontaktsupport	55
12 Zelle	
13 Mikroelektrode	
14 Abstandshalter	
15 Isolator	
16 Leitleber	60
17 Blende	
18 µ-Ball	

Patentansprüche

1. Verfahren zum Herstellen einer 3-D-Mikrodurchflusszelle bestehend aus einem unteren und einem oberen Substrat, zwischen denen ein Strömungskanal an-

geordnet ist, den eine mit Außenkontakten verbundene Elektrodenstruktur durchdringt, wobei wenigstens eines der Substrate zunächst mit einer Leitbahn- und Elektrodenstruktur und an den Enden des Strömungskanales mit Durchkontaktierungen zum Anschluss von Flüssigkeitszu- und -abläufen versehen wird, **dadurch gekennzeichnet**, dass auf dem unteren Substrat (1) den Strömungskanal (3) beidseits desselben definierende Spacer-I (5) sowie zusätzliche Abstandshalter (14) aus einem im wesentlichen nicht kompressiblen Material oder härtbarem Material vorgegebener Höhe aufgebracht werden, die nach dem Aufbringen mit dem unteren Substrat (1) irreversibel fest verbunden werden, dass außerhalb des Strömungskanales ein pastöser Klebstoff als Spacer-II (6) gleichmäßiger Dicke aufgetragen wird und dass anschließend das obere Substrat (2) auf dem unteren Substrat (1) positioniert und unter Krafteinwirkung mit diesem verbunden wird, wobei gleichzeitig der Strömungskanal (3) abgedichtet wird.

2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass der Spacer-II (6) unmittelbar neben dem Spacer-I (5), diesen parallel umfassend, aufgetragen wird, wobei die Dicke des Spacers-II (6) vor der Montage größer ist, als die Höhe des Spacers-I (5).
3. Verfahren nach Anspruch 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, dass der Spacer-I (5) und die Abstandshalter (14) mittels Siebdruck auf das untere Substrat (1) aufgebracht und anschließend gehärtet werden.
4. Verfahren nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass das Härten durch Wärmeeinwirkung und/oder durch Licht-Bestrahlung, wie UV-Bestrahlung, vorgenommen wird.
5. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass der Spacer-I (5) und die Abstandshalter (14) auf dem unteren Substrat (1) mittels fotolithografischer Verfahren, oder durch Dispensieren hergestellt und anschließend durch Tempern gehärtet werden.
6. Verfahren nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, dass der Spacer-I (5) und die Abstandshalter (14) aus einem fotostrukturierbaren Fotoresist, vorzugsweise einem Trockenfotoresist, hergestellt wird.
7. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass der Spacer-I (5) und die Abstandshalter (14) aus einer vorstrukturierten, wenigstens einseitig klebenden Metall- oder Polymerfolie hergestellt und auf das untere Substrat (1) aufgeklebt wird.
8. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass die Herstellung der Verbindung des oberen Substrates (2) mit dem unteren Substrat unter Einwirkung von Druck und Wärme und/oder UV-Strahlung erfolgt wird.
9. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass ein Klebstoff als Spacer-II (6) auf der Basis von Epoxydharz oder Silikonkautschuk verwendet wird.
10. 3-D-Mikrodurchflusszelle, hergestellt nach dem Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 9, bestehend aus einem unteren und einem oberen Substrat, wobei zwischen den Substraten ein mit fluidischen Durchkontakten versehener Strömungskanal angeordnet ist, den ein mit Außenkontakten verbundenes Elektrodensystem durchdringt, dadurch gekennzeichnet, dass auf dem unteren Substrat (1) den Strömungskanal (3) definierende Spacer-I (5) sowie zusätzliche Abstandshalter (14) aus einem im wesentlichen nicht kompressiblen Material, oder härtbarem Material, vorgegebener Höhe angeordnet sind, die mit diesem unteren Substrat (1) irreversibel fest verbunden sind, dass das obere Substrat

- (2) mit dem unteren Substrat (1), den Strömungskanal (3) dicht verschließend, mittels einer pastösen, härtbaren Klebstoffschicht als Spacer-II (6) verbunden ist.
11. 3-D-Mikrodurchflussszelle nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, dass sich der Spacer-II (6) beidseits außerhalb des Strömungskanales (3) auf der Außenseite der Spacer-I (5) streifenförmig längs desselben erstreckt.
12. 3-D-Mikrodurchflussszelle nach Anspruch 10 und 11, dadurch gekennzeichnet, dass die Dicke der Spacer I (5) und der Abstandhalter (14) gleich ist und zwischen $\sim 10 \mu\text{m}$ und $\sim 100 \mu\text{m}$ liegt.
13. 3-D-Mikrodurchflussszelle nach den Ansprüchen 10 bis 12, dadurch gekennzeichnet, dass wenigstens das untere Substrat (1) aus Glas besteht und eine Dicke von $\sim 140 \mu\text{m}$... $210 \mu\text{m}$ aufweist.
14. 3-D-Mikrodurchflussszelle nach einem der Ansprüche 10 bis 12, dadurch gekennzeichnet, dass das obere Substrat (2) aus einer Kunststoff-Folie besteht.
15. 3-D-Mikrodurchflussszelle nach Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, dass das obere Substrat (2) aus einer Polymerfolie mit einer Dicke von $170 \dots 200 \mu\text{m}$ besteht.
16. 3-D-Mikrodurchflussszelle nach den Ansprüchen 10 bis 15, dadurch gekennzeichnet, dass der Bereich des Strömungskanales (3) wenigstens im Wellenlängenbereich von 250 bis 450 nm optisch transparent ist.
17. 3-D-Mikrodurchflussszelle nach einem der Ansprüche 10 bis 16, dadurch gekennzeichnet, dass wenigstens das obere Substrat (2) oder das untere Substrat (1) metallische Mikroelektroden (13) enthält, die in einem vorgegebenen geometrischen Bezug zueinander stehen und dass das obere Substrat (2) Face-down auf dem unteren Substrat (1) montiert ist.
18. 3-D-Mikrodurchflussszelle nach Anspruch 17, dadurch gekennzeichnet, dass die Mikroelektroden (13) des oberen Substrates (2) mit Kontaktpads (10) versehen und mit den Außenkontakten (9) auf dem unteren Substrat (1) durch Leitleber oder Löt pads elektrisch verbunden sind.
19. 3-D-Mikrodurchflussszelle nach einem der Ansprüche 10 bis 18, dadurch gekennzeichnet, dass die Mikroelektroden (13) aus Platin, Gold, Tantal oder Titan bestehen.
20. 3-D-Mikrodurchflussszelle nach einem der Ansprüche 10 bis 19, dadurch gekennzeichnet, dass das Elektroden- und Anschlusssystem auf dem oberen und dem unteren Substrat (2; 1) mittels eines organischen oder anorganischen elektrischen Isolatormaterials ganzflächig isoliert ist, wobei das Isolatormaterial in Inneren des Strömungskanales, auf den Kontaktpads sowie auf den Kontaktsupports ausgespart ist.
21. 3-D-Mikrodurchflussszelle nach einem der Ansprüche 10 bis 20, dadurch gekennzeichnet, dass auf der Außenseite des oberen Substrates (2) eine lichtundurchlässige Blende (17) in der Weise aufgebracht ist, dass der Randbereich des Strömungskanales abgedeckt, jedoch dessen zentraler Bereich freigehalten ist.
22. 3-D-Mikrodurchflussszelle nach Anspruch 21, dadurch gekennzeichnet, dass die Blende (17) als Abschirmung von innen und außen für elektromagnetische und bioelektrische Wellen ausgebildet ist.
23. 3-D-Mikrodurchflussszelle nach Anspruch 22, dadurch gekennzeichnet, dass die Blende (17) aus Metall besteht.
24. 3-D-Mikrodurchflussszelle nach Anspruch 23, dadurch gekennzeichnet, dass die Blende (17) aus einem fotolithografisch strukturierbaren Cu- oder Al-Dünn-

film besteht.

25. 3-D-Mikrodurchflussszelle nach einem der Ansprüche 21 bis 24, dadurch gekennzeichnet, dass die Blende (17) ablösbar ist.

26. 3-D-Mikrodurchflussszelle nach einem der Ansprüche 10 bis 25, dadurch gekennzeichnet, dass in den Spacer-I (5) eine Nut oder anderweitige längs desselben verlaufende Vertiefung zur Aufnahme von Klebstoff eingearbeitet ist.

27. 3-D-Mikrodurchflussszelle nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, dass der Spacer-I (5) aus Silikon gummi auf dem Spacer-II (6) aufgedruckt ist und nach dem Ausvulkanisieren das obere und das untere Substrat (2, 1) kraftschlüssig miteinander verbunden sind.

28. 3-D-Mikrodurchflussszelle nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, dass der fotolithografisch auf dem unteren Substrat (1) hergestellte Spacer-I (5) eine Breite aufweist, die im wesentlichen der Parallelanordnung von Spacer-I (5) und Spacer-II (6) entspricht und dass das obere Substrat (2) durch Adhäsionskraft auf dem unteren Substrat (1) befestigt ist.

Hierzu 4 Seite(n) Zeichnungen

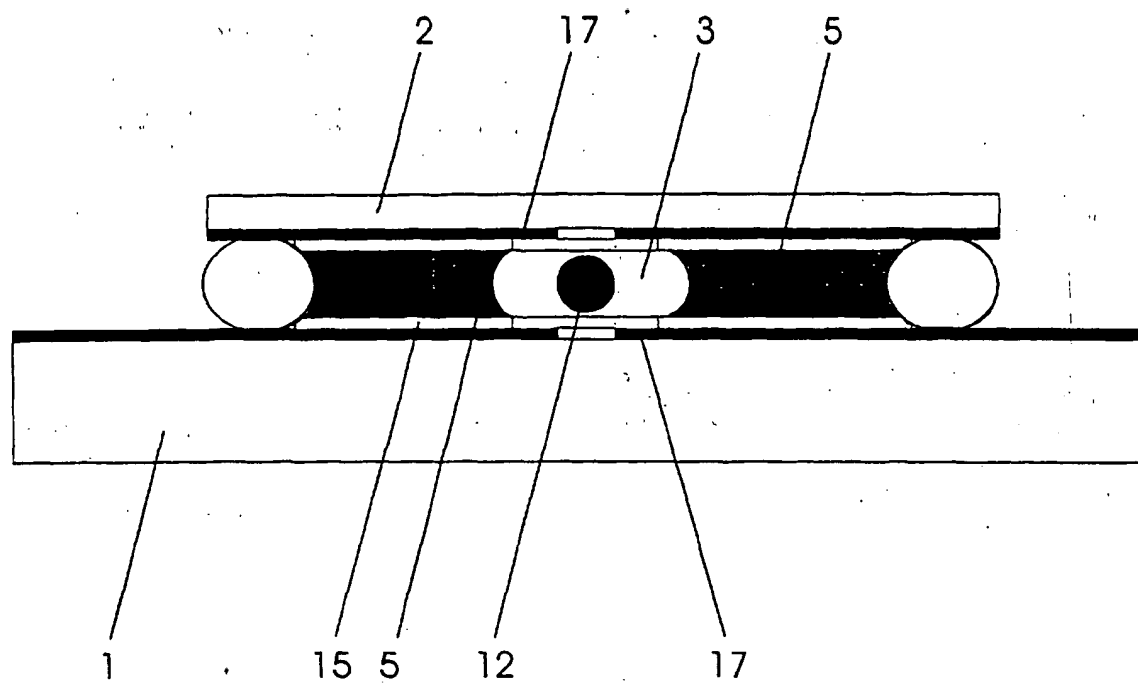


Fig. 5

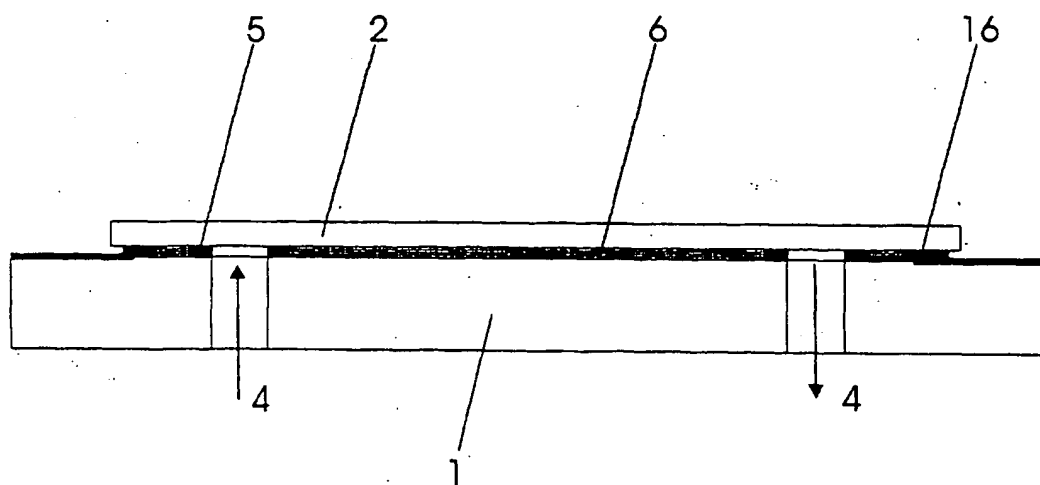


Fig. 4

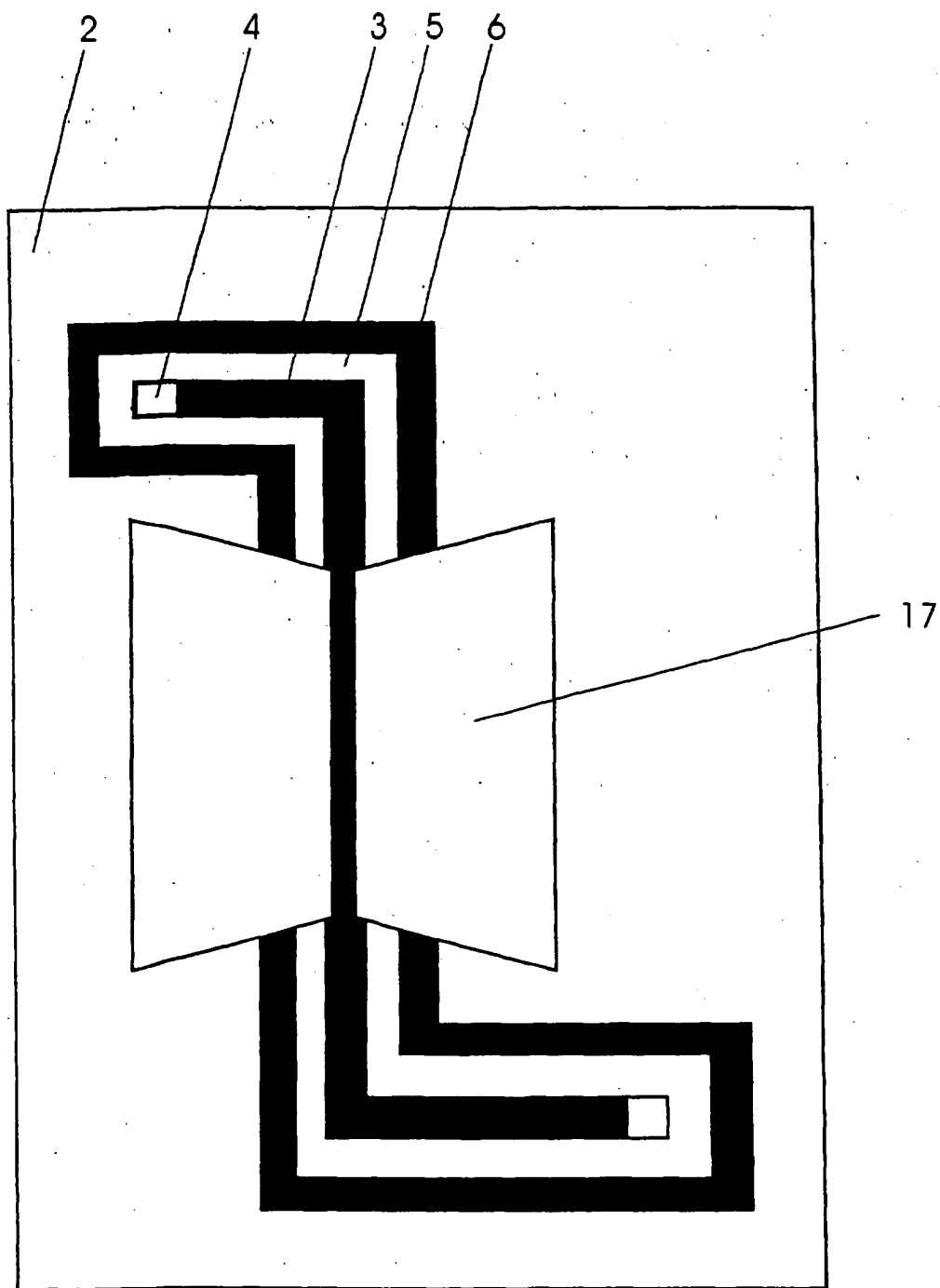


Fig. 6

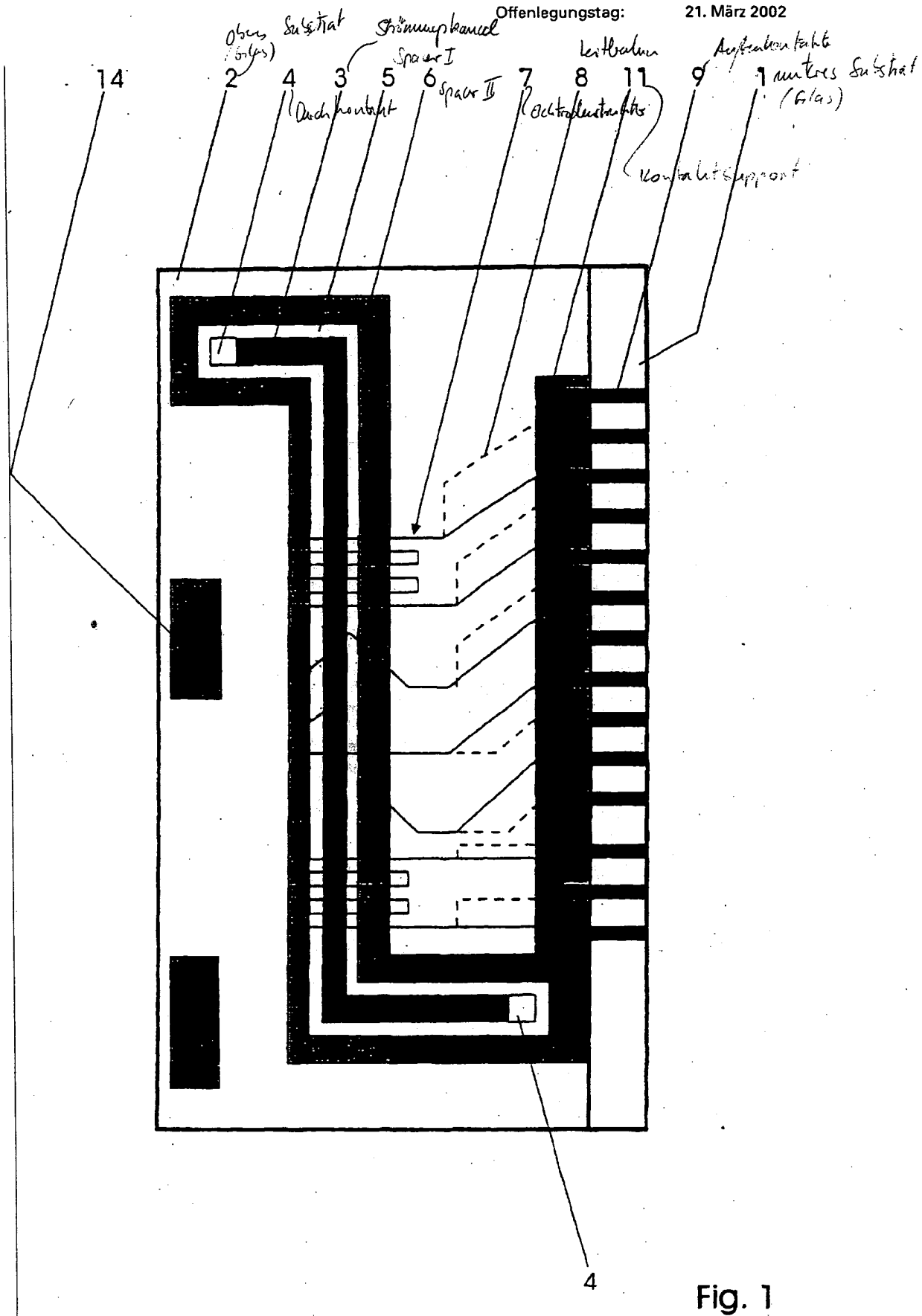


Fig. 1

